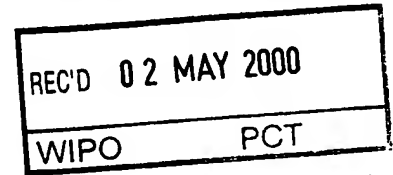


10/048132

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



EP 00/02412  
4

### Bescheinigung

Die MWG-BIOTECH AG in Ebersberg/Deutschland hat eine Gebrauchsmusteranmeldung unter der Bezeichnung

"Probengeber"

am 17. August 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Gebrauchsmusteranmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig das Symbol G 01 N 35/10 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 14. März 2000

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Nietiert

Aktenzeichen: 299 14 360.0

## Probengeber

Die Erfindung betrifft einen Probengeber zum Auftragen von flüssigen Proben auf einem Probenaufnahmebereich.

Zur Übertragung von sehr kleinen Probenmengen sind Probengeber bekannt, die eine Kapillare aufweisen, mit welcher eine flüssige Probe angesaugt und an einen Probenbereich abgegeben werden kann. Der Probenbereich muß hierzu ein saugfähiges Material aufweisen, das die Probenflüssigkeit aus der Kapillare saugt. Die Kapillare dieser Probengeber ist ähnlich wie bei einer Füllfeder in ein dünnes Federblatt eingebracht. Mit einem solchen Probengeber können kleinste Mengen sehr exakt aufgenommen werden, da die Menge durch das Volumen der Kapillare exakt definiert ist. Es hat sich jedoch gezeigt, daß das Abgeben der in der Kapillare aufgenommenen Probenmenge erhebliche Probleme bereitet, da das den Probenaufnahmebereich bildende saugfähige Material eine sehr starke Saugwirkung besitzen muß, da ansonsten Reste der Probenflüssigkeit in der Kapillare verbleiben. Diese Probengeber mit Kapillare sind deshalb nur für spezielle Probenaufnahmebereiche verwendbar und es ist zudem schwierig derartige Probengeber in einem automatisierten Prozeß einzusetzen, bei dem nicht immer überprüft wird, ob die in der Kapillare aufgenommene Probenflüssigkeit vollständig an den Probenaufnahmebereich übergeben wird.

Aus der DE 197 00 626 A1 ist ein Membrankamm bekannt, der aus einem porösen Material, wie z.B. aus einer mit Hydroxylgruppen beschichteten Nylonmembran, besteht. Auf jeden einzelnen Zahn dieses Membrankammes soll jeweils eine Probenmenge aufgetragen werden, die etwa 0,2 bis 0,3 Mikroliter beträgt. Das Probenmaterial ist z.B. DNA in Formamid. Beim Übertragen des Probenmaterials auf die Zähne dieses Membrankammes konnte mit dem bekannten Probengeber kein zufriedenstellendes Resultat beim Übertragen der Probenflüssigkeit auf die einzelnen Zähne der Membrankämme erzielt werden.

Ferner sind Probengeber in Form von Spitzen bekannt, mit welchen es möglich sein soll zähflüssige Medien dosiert zu übertragen. Diese Probengeber haben sich jedoch bei der oben Beschriebenen Anwendung zum dosierten Übertragen von Formamid nicht bewährt, da keine Tropfen oder nur kleinste Tropfen mit unterschiedlichsten Mengen daran haften bleiben.

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, einen Probengeber zum Auftragen von flüssigen Proben auf einen Probenaufnahmebereich zu schaffen, der einfach aufgebaut ist, kleine Probenvolumina ( $< 1$  Mikroliter) sicher aufnehmen und sicher auf einen Probenaufnahmebereich übertragen kann, und der für den automatischen Betrieb geeignet ist, bei dem nicht jede Probenaufnahme und jede Probenabgabe einzeln überprüft werden kann.

Die Aufgabe wird durch einen Probengeber mit den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen angegeben.

Der erfindungsgemäße Probengeber zum Auftragen von flüssigen Proben auf einen Probenaufnahmebereich ist aus einem Probengeberkörper ausgebildet, der eine Probenaufnahmefläche aufweist. Die Probenaufnahmefläche ist durch eine umlaufende Kante begrenzt und mit einer Ausnehmung derart versehen, daß beim Eintauchen der Probenaufnahmefläche ein Tröpfchen einer flüssigen Probe vorbestimmter Größe an der Probenaufnahmefläche haftet und durch Aufsetzen der Probenaufnahmefläche auf den Probenaufnahmebereich abgegeben wird.

Versuche haben gezeigt, daß mit dem erfindungsgemäßen Probengeber die gewünschten Mengen an flüssigen Proben sicher alleine durch Eintauchen der Probenaufnahmefläche in die Flüssigkeitsprobe aufgenommen und durch Aufsetzen auf den Probenaufnahmebereich abgegeben werden. Der Probenaufnahmebereich weist vorzugsweise eine gewisse Saugfähigkeit auf, die jedoch wesentlich geringer sein kann, als bei der Verwendung von den eingangs beschriebenen Probengebern mit Kapillare notwendig sind.

Der erfindungsgemäße Probengeber ist sehr einfach ausgebildet, mit ihm wird die gewünschte zu übertragende Probenmenge durch die Ausnehmung der Probenaufnahme­fläche festgelegt und sie ist überraschend exakt reproduzierbar. Die Probenmenge wird durch die physikalischen Eigenschaften, insbesondere deren Oberflächenspannung, der Probenflüssigkeit beeinflußt. Je größer die Oberflächenspannung der Probenflüssigkeit ist, desto größer sind die mit dem erfindungsgemäßen Probengeber übertragenen Flüssigkeitströpfchen. Bei der Bemessung der Ausnehmung der Probenaufnahme­fläche ist deshalb die Art der Probenflüssigkeit mit zu berücksichtigen.

Bei der Entwicklung der vorliegenden Erfindung sind unterschiedliche Arten von Probengebern getestet worden, wie z.B. Pipettenspitzen, Stahlkapillaren, Glaskapillaren und diverse Probengeber mit langen Nuten oder Kerben. Bei all diesen Probengebern bestanden die eingangs geschilderten Probleme bei der Übertragung der Probenflüssigkeit auf den Probenaufnahmebereich.

Zudem wurde ein Probengeber getestet, der eine ebenflächige Probenaufnahme­fläche mit vorbestimmter Größe aufweist, wobei die Fläche aufgeraut worden ist. Diese Ausführungsform hat zwar eine sichere Übertragung der Probenflüssigkeit auf den Probenaufnahmebereich erlaubt, jedoch sind hiermit Probentröpfchen unterschiedlichster Größe beim Eintauchen in die Probenflüssigkeit aufgenommen worden, so daß auch mit diesem Probengeber kein Übertragen einer reproduzierbaren Probenmenge möglich ist.

Nur der erfindungsgemäße Probengeber hat zufriedenstellend die Anforderungen erfüllt, so daß er auch in einem automatisierten Prozeß einsetzbar ist.

Die Erfindung wird nachfolgend beispielhaft näher anhand den in den Zeichnungen dargestellten Ausführungsbeispielen erläutert. Es zeigen:

Fig. 1      einen erfindungsgemäßen Probengeber nach einem ersten Ausführungsbeispiel in der Seitenansicht,

Fig. 2      den Probengeber nach Fig. 1 im Längsschnitt,

- Fig. 3 den Probengeber nach Fig. 1 in perspektivischer Ansicht mit Blickrichtung von schräg oben,
- Fig. 4 die Spitze des Probengebers nach Fig. 1 in einer vergrößert herausgestellten Schnittansicht,
- Fig. 5 die Spitze des Probengebers nach Fig. 1 in einer perspektivischen Darstellung mit Blickrichtung von schräg unten,
- Fig. 6 einen Probengeber nach einem zweiten Ausführungsbeispiel in der Seitenansicht,
- Fig. 7 den Probengeber nach Fig. 7 im Längsschnitt,
- Fig. 8 den Probengeber aus Fig. 6 in perspektivischer Ansicht mit Blickrichtung von schräg oben,
- Fig. 9 eine vergrößerte Schnittdarstellung der Spitze des Probengebers aus Fig. 6,
- Fig. 10 eine vergrößerte Darstellung der Spitze aus Fig. 6 in der Seitenansicht, und
- Fig. 11 die Spitze des Probengebers aus Fig. 6 in perspektivischer Ansicht mit Blickrichtung von schräg unten.

Die Fig. 1 bis 5 zeigen ein erstes Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Probengebers. Der erfindungsgemäße Probengeber weist einen aus einer Aluminiumlegierung ausgebildeten Probengeberkörper 1 auf, der aus einem stabförmigen Schaftbereich 2, einem sich konisch verjüngenden Übergangsbereich 3 und einer sich an den sich konisch verjüngenden Übergangsbereich 3 anschließenden Spitze 4 ausgebildet ist. Die Spitze 4 weist die Form eines Zylinders auf. Die Länge des

Schaftbereichs 2 beträgt etwa 20 mm, die des Übergangsbereichs 3 etwa 19 mm und die Länge der Spitze 4 ca. 2 mm. Der Durchmesser der Spitze beträgt ca. 1 mm.

Die freie Stirnseite der Spitze 4 bildet eine Probenaufnahme­fläche 5. Im vorliegenden Ausführungsbeispiel ist die Probenaufnahme­fläche 5 kreisförmig ausgebildet (Fig. 3, Fig. 5), so daß sie von einer kreisförmigen Kante 6 begrenzt ist. Die Probenaufnahme­fläche 5 ist mit einer kegelförmigen Ausnehmung 7 versehen, die konzentrisch zu einer Längsachse 8 des Probengebers ausgebildet ist, wobei die durch die kegelförmige Ausnehmung gebildeten Kegelflächen an der die Probenaufnahme­fläche 5 begrenzenden Kante 6 enden. Der Winkel  $\alpha$ , den die kegelförmige Ausnehmung einschließt, liegt im Bereich von 90° bis 150° und beträgt im dargestellten Ausführungsbeispiel 120°. Eine derartige Ausnehmung kann einfach mit einem Bohrwerkzeug hergestellt werden. Die mit einem Bohrwerkzeug hergestellte Ausnehmung 7 besitzt glatte Innenflächen, die bis auf ein Entgraten der Kanten keiner Nachbearbeitung bedürfen. Es hat sich gezeigt, daß eine glatt ausgebildete Probenaufnahme­fläche 5 vorteilhaft ist, da dies eine bessere Übertragung der Probenflüssigkeit vom Proben­geber auf einen Probenaufnahmebereich erlaubt. Wird die Ausnehmung 7 durch ein anderes Verfahren als Bohren erzeugt, bei dem die Oberfläche aufgeraut wird, ist es zweckmäßig, daß die Oberfläche z.B. durch Polieren geglättet wird.

Vom oberen Ende des Schaftbereichs 2 ist konzentrisch zu Längsachse 8 eine Bohrung 9 eingebracht, die sich bis in den Übergangsbereich 3 erstreckt. Im Bereich des oberen Endes des Probenkörpers 1 ist senkrecht zur Bohrung 9 eine Gewindebohrung 10 eingebracht. In die Bohrung 9 kann eine Haltestange einer Betätigungsvorrichtung, wie z.B. eines Roboters zum Amplifizieren oder Sequenzieren von DNAs eingesetzt und mittels einer in die Gewindebohrung 10 geschraubten Schraube fixiert werden. Der erfindungsgemäße Probengeber wird mit der Probenaufnahme­fläche 5 nach untenweisend an der Betätigungsvorrichtung befestigt.

Beim Betrieb wird der Probengeber mit seiner Probenaufnahme­fläche 5 in ein Probenreservoir eingetaucht, wodurch sich ein Probentröpfchen an der Probenaufnahme­fläche 5 anlagert, dessen Größe der Probenaufnahme­fläche 5 und der Ausnehmung 7 bestimmt ist. Das Probentröpfchen haftet durch Benetzungskräfte, die in der Regel Van-der-Waals-Kräfte sind, an der Probenaufnahme­fläche 5. Der Probengeber

wird dann mit seiner Probenaufnahme­fläche 5 auf einem Probenaufnahme­bereich aufgesetzt, wobei er mit seiner Probenaufnahme­fläche 5 auf den Probenaufnahme­bereich aufgedrückt wird. Hierdurch wird das an der Probenaufnahme­fläche 5 haf­fende Probentröpfchen auf den Probenaufnahme­bereich vollständig übertragen. Bei tiefer ausgebildeten Ausnehmungen 7 kann es zweckmäßig sein, den Probenaufnahme­bereich weichelastisch, beispielsweise durch Vorsehen einer entsprechenden Unterlage zu gestalten, so daß dieser beim Aufdrücken des Probengebers in die Ausnehmung 7 gedrückt wird und vollständig die darin enthaltene Probenflüssigkeit aufnimmt.

Es hat sich gezeigt, daß es zweckmäßig ist, die Tiefe der muldenförmigen Ausnehmung 7 nicht größer als 50 % des Durchmessers der Probenaufnahme­fläche 5 auszubilden.

Die Reinigung des erfindungsgemäßen Probengebers erfolgt durch Eindrücken in ein befeuchtetes Schaumstoffmaterial, wodurch die Ausnehmung 7 und die daran angrenzenden Oberflächen des Probengebers gereinigt werden. Das Schaumstoffmaterial ist offenzellig ausgebildet und es wird mit Wasser befeuchtet. Es ist jedoch auch möglich ein Reinigungsmittel dem Wasser hinzuzusetzen.

Die Figuren 6 bis 11 zeigen ein zweites Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Probengebers, das im wesentlichen dem ersten Ausführungsbeispiel entspricht, weshalb gleiche Teile mit gleichen Bezugszeichen bezeichnet sind. Der einzige Unterschied zum ersten Ausführungsbeispiel liegt darin, daß der Zylinder der Spitze 4 einen größeren Durchmesser, nämlich 1,5 mm, aufweist und die Spitze 4 im an der Probenaufnahme­fläche 5 angrenzenden Bereich der Mantelfläche des Zylinders zu zwei parallelen Flächen 11 abgeflacht ist (Fig. 9 bis 11). Die beiden abgeflachten Flächen 11 sind mit einem Abstand  $d$  von ca. 1 mm angeordnet. Hierdurch ergibt sich in der Ansicht von unten (Fig. 11) eine etwa rechteckförmige Probenaufnahme­fläche 5 mit kurzen ausgebogenen Seitenkanten.


Das zweite Ausführungsbeispiel weist gegenüber dem ersten Ausführungsbeispiel eine größere Probenaufnahme­fläche 5 auf, weshalb hiermit auch größere Probentröpfchen aufgenommen werden. Der Abstand zwischen den parallelen Flächen 11

ist jedoch nicht größer als der Durchmesser der Probenaufnahmefläche 5 des ersten Ausführungsbeispiels, weshalb der Probengeber nach dem zweiten Ausführungsbeispiel auch an räumlich eng begrenzten Probeaufnahmebereichen, wie z.B. den aus der DE 197 00 626 A1 bekannten Zähnen von Membrankämmen angesetzt werden kann.

Die Erfindung ist oben anhand zweier Ausführungsbeispiele näher erläutert worden. Sie ist selbstverständlich nicht auf die konkrete Ausgestaltung der Ausführungsbeispiele beschränkt. Wesentlich für die Erfindung ist, daß die Probenaufnahmefläche 5 durch eine umlaufende Kante begrenzt ist, so daß deren Fläche eindeutig definiert ist, wodurch auch das Probenaufnahmevolumen neben den weiteren Parametern, wie der Tiefe und der Form der Ausnehmung 7 und der Art der Probenflüssigkeit festgelegt ist. Die umlaufende Kante kann, wie bei den dargestellten Ausführungsbeispielen durch eine Körperkante ausgebildet sein, bei welcher angrenzende Körperflächen des Probengeberkörpers im rechten Winkel oder in einem kleineren Winkel aneinander stoßen. Die Kante kann jedoch auch beispielsweise durch einen schmalen Ringsteg auf einer ebenen oder ausgewölbten Fläche ausgebildet sein. Ein weiterer wesentlicher Aspekt der Erfindung ist die Ausnehmung, da hierdurch aufgrund der Haftungskräfte und der Oberflächenspannung der Probenflüssigkeit zum einen ein sicheres Aufnehmen einer vorbestimmten Menge an Probenflüssigkeit gewährleistet wird und zum anderen das sichere Übertragen auf einen Probenaufnahmebereich sichergestellt wird.



**Bezugszeichenliste**

- 
- 1     Probengeberkörper
  - 2     Schaftbereich
  - 3     Übergangsbereich
  - 4     Spitze
  - 5     Probenaufnahmefläche
  - 6     Kante
  - 7     Ausnehmung
  - 8     Längsachse
  - 9     Bohrung
  - 10    Gewindebohrung
  - 11    abgeflachte Fläche

## Schutzansprüche

1. Probengeber zum Auftragen von flüssigen Proben auf einen Probenaufnahmebereich mit einem Probengeberkörper (1), der an seiner Stirnseite eine Probenaufnahme­fläche (5) aufweist, die durch eine umlaufende Kante (6) begrenzt ist, und die Probenaufnahme­fläche (5) mit einer Ausnehmung (7) derart versehen ist, daß beim Eintauchen der Probenaufnahme­fläche (5) in ein Probenreservoir ein Tröpfchen vorbestimmter Größe einer flüssigen Probe an der Probenaufnahme­fläche (5) haftet und durch Aufsetzen der Probenaufnahme­fläche (5) auf den Probenaufnahme­bereich vollständig abgegeben wird.
2. Probengeber nach Anspruch 1,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Ausnehmung (7) als flache Ausnehmung (7) ausgebildet ist, das heißt, daß sie eine geringere Tiefe als Breite und vorzugsweise eine Tiefe von weniger als 50 % der Breite aufweist.
3. Probengeber nach Anspruch 1 oder 2,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Probenaufnahme­fläche (5) kleiner als 2 mm<sup>2</sup> und vorzugsweise kleiner als 1 mm<sup>2</sup> ist.
4. Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Ausnehmung (7) hohlkegelförmig ausgebildet ist.
5. Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Ausnehmung (7) hohlkugelsegmentförmig ausgebildet ist.
6. Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 5,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Ausnehmung (7) durch Bohren hergestellt ist.

7. Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 6,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Probenaufnahmefläche (5) poliert ist.

8. Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 7,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Aufnahme­fläche (5) durch eine freie Stirnfläche des Probengeberkörpers (1) dargestellt wird, der als langgestreckter Körper ausgebildet ist.

9. Probengeber nach Anspruch 8,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß der Zylinderabschnitt mit zwei parallelen abgeflachten Wandungen (11) versehen ist.

10. Probengeber nach Anspruch 9,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die parallelen Wandungen (11) mit einem Abstand von 0,8 mm bis 1,2 mm ausgebildet sind.

11. Probengeber nach einem der Ansprüche 8 bis 10,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß der Zylinderabschnitt einen Durchmesser von 1 mm bis 2 mm aufweist, und vorzugsweise einen Durchmesser von 1,2 mm bis 1,7 mm aufweist.

12. Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 11,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß der Probengeber aus einer Aluminiumlegierung ausgebildet ist.

13. Reinigungsvorrichtung für einen Probengeber nach einem der Ansprüche 1 bis 12,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß die Reinigungsvorrichtung ein aus Schaumstoffmaterial bestehendes Teil ist.

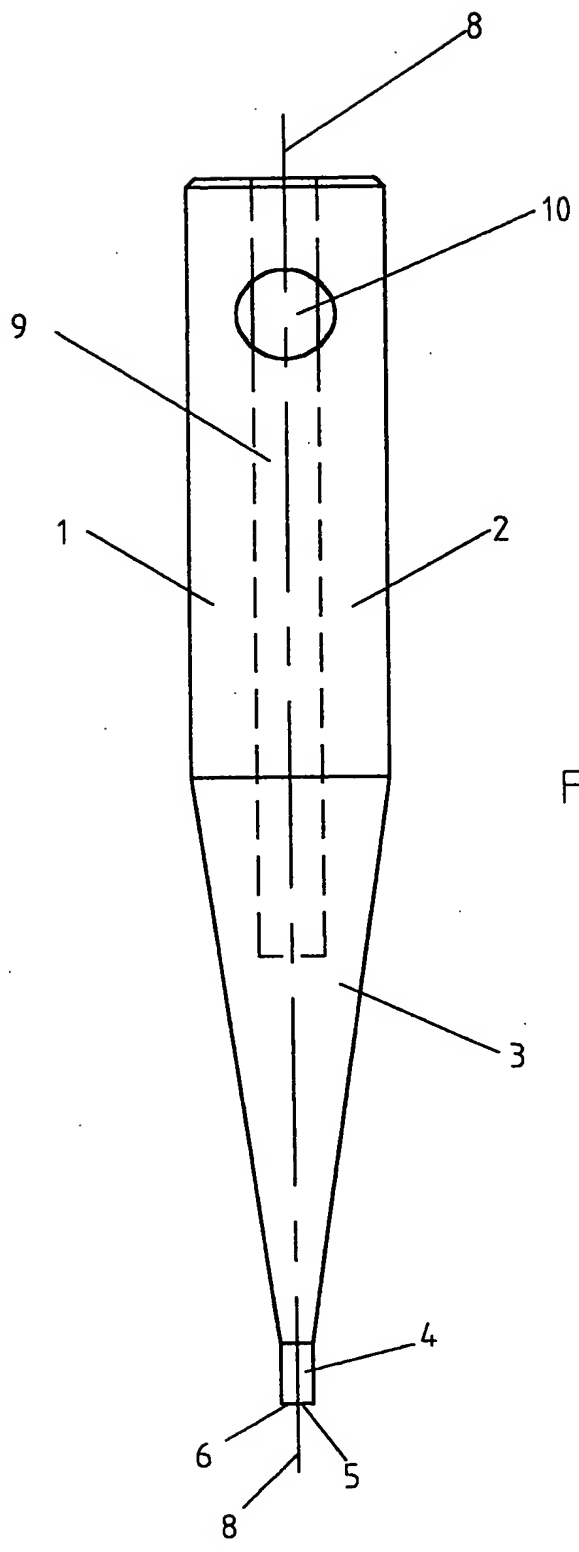
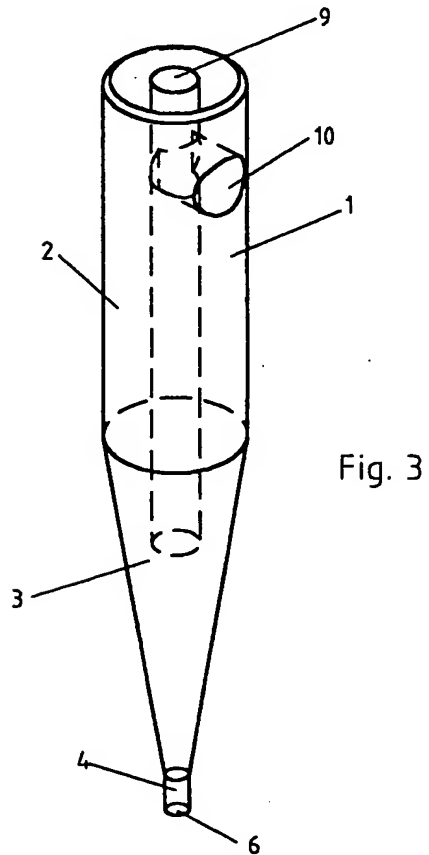
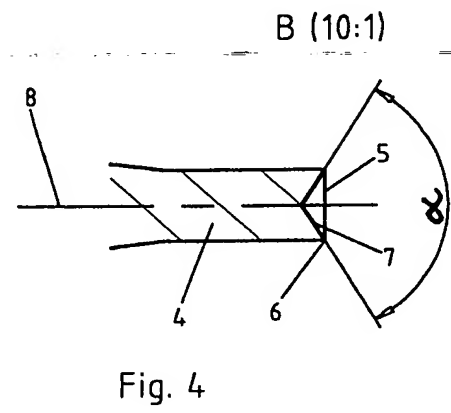
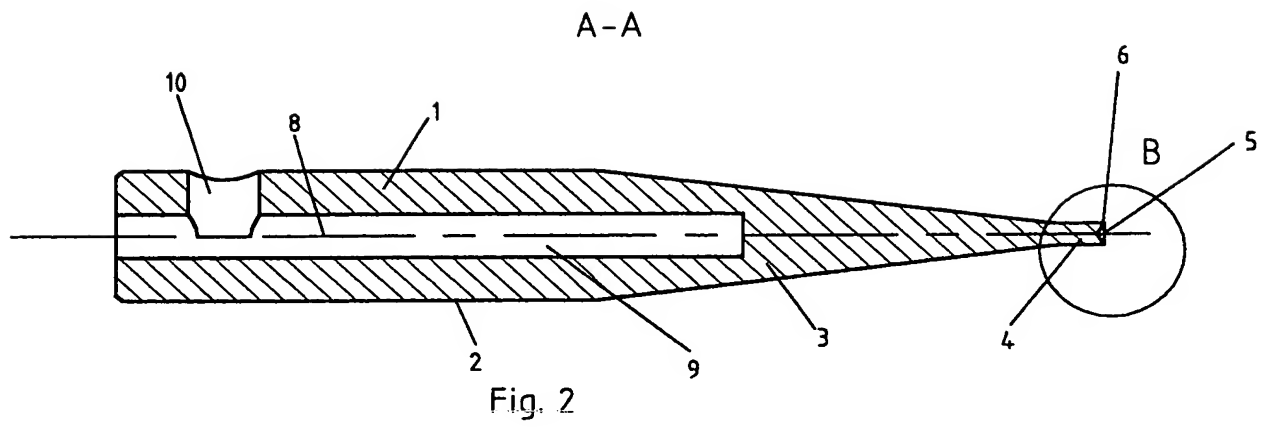


Fig. 1



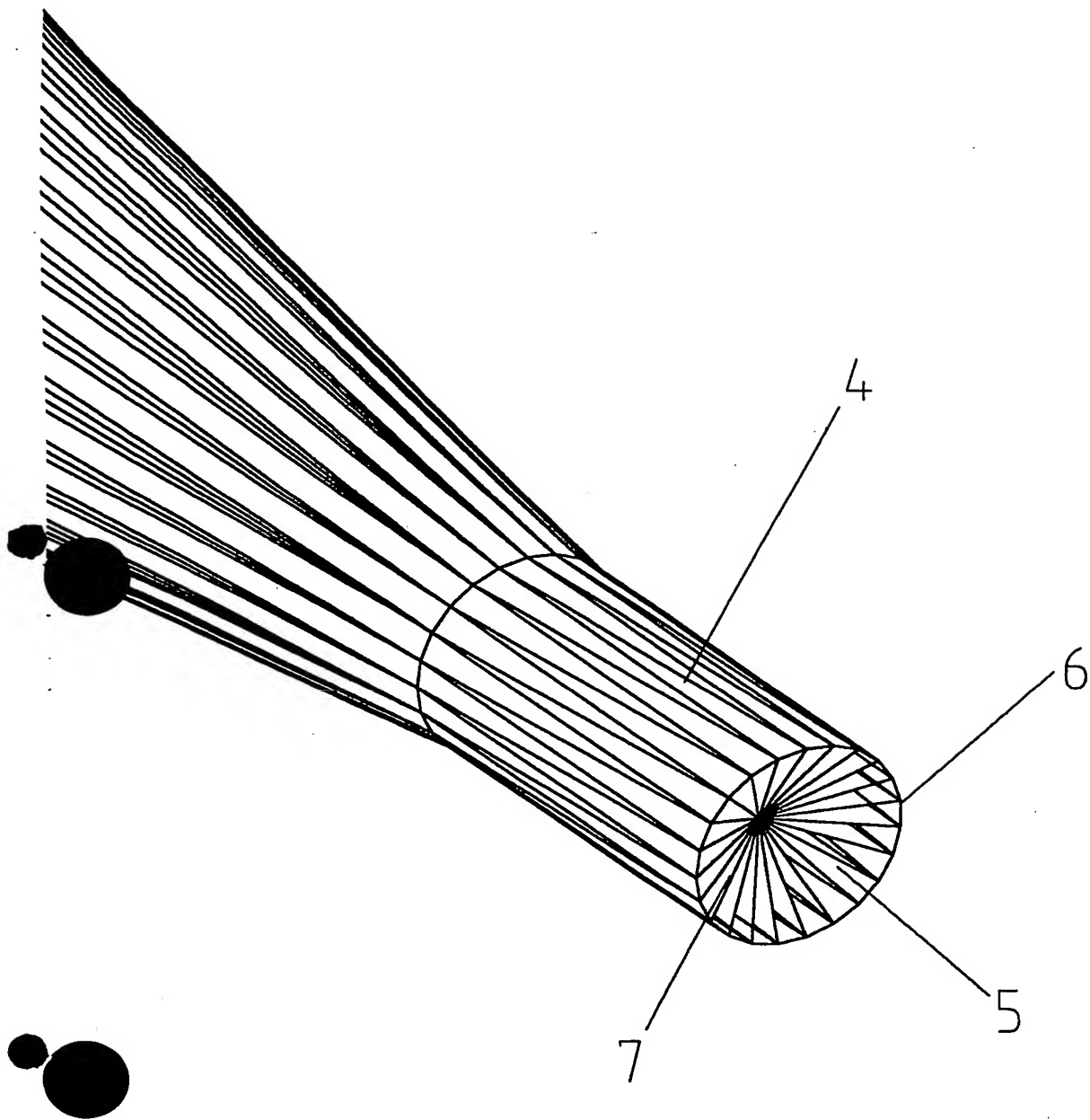


Fig. 5

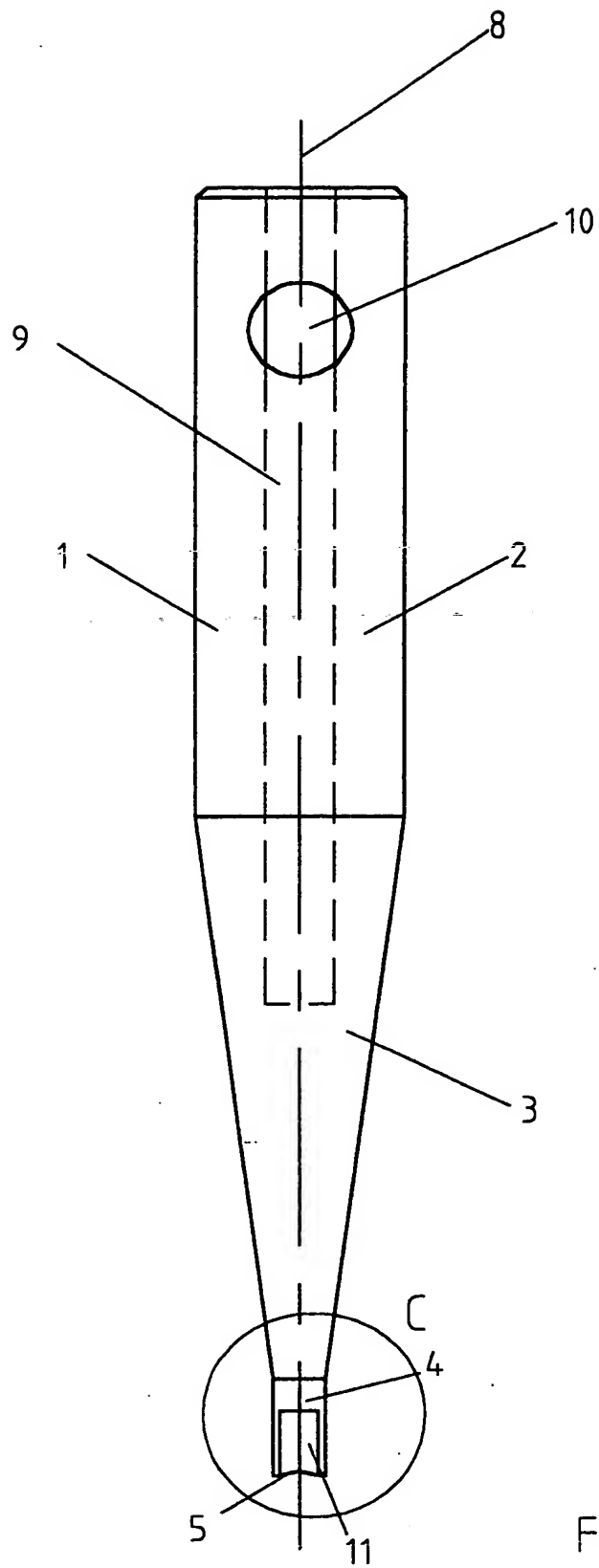


Fig. 6

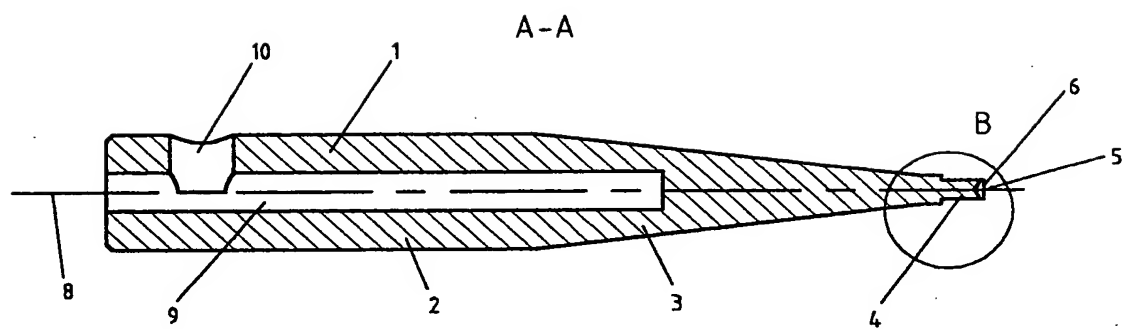


Fig. 7

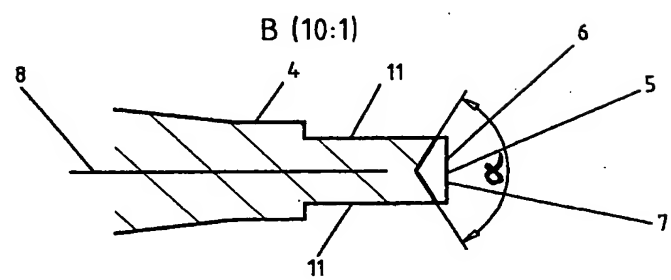


Fig. 9

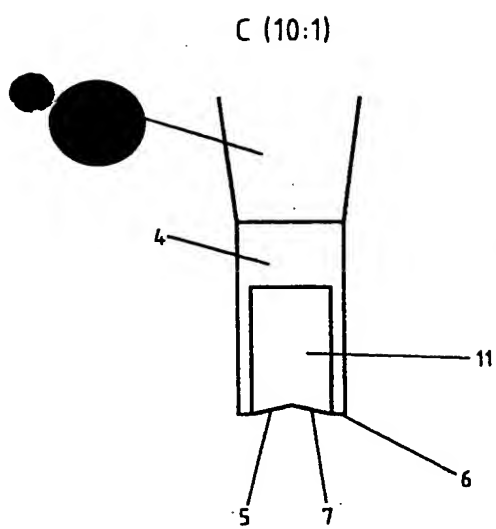


Fig. 10

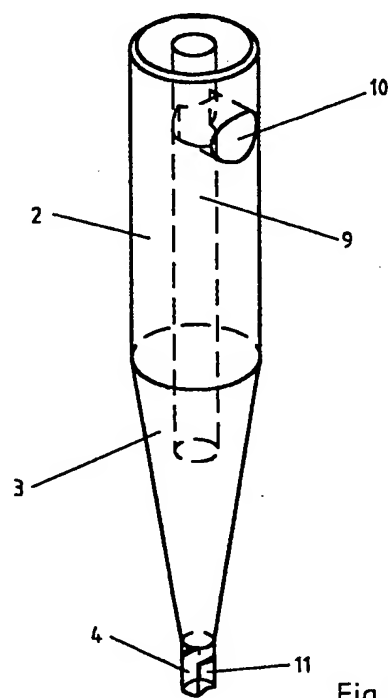


Fig. 8



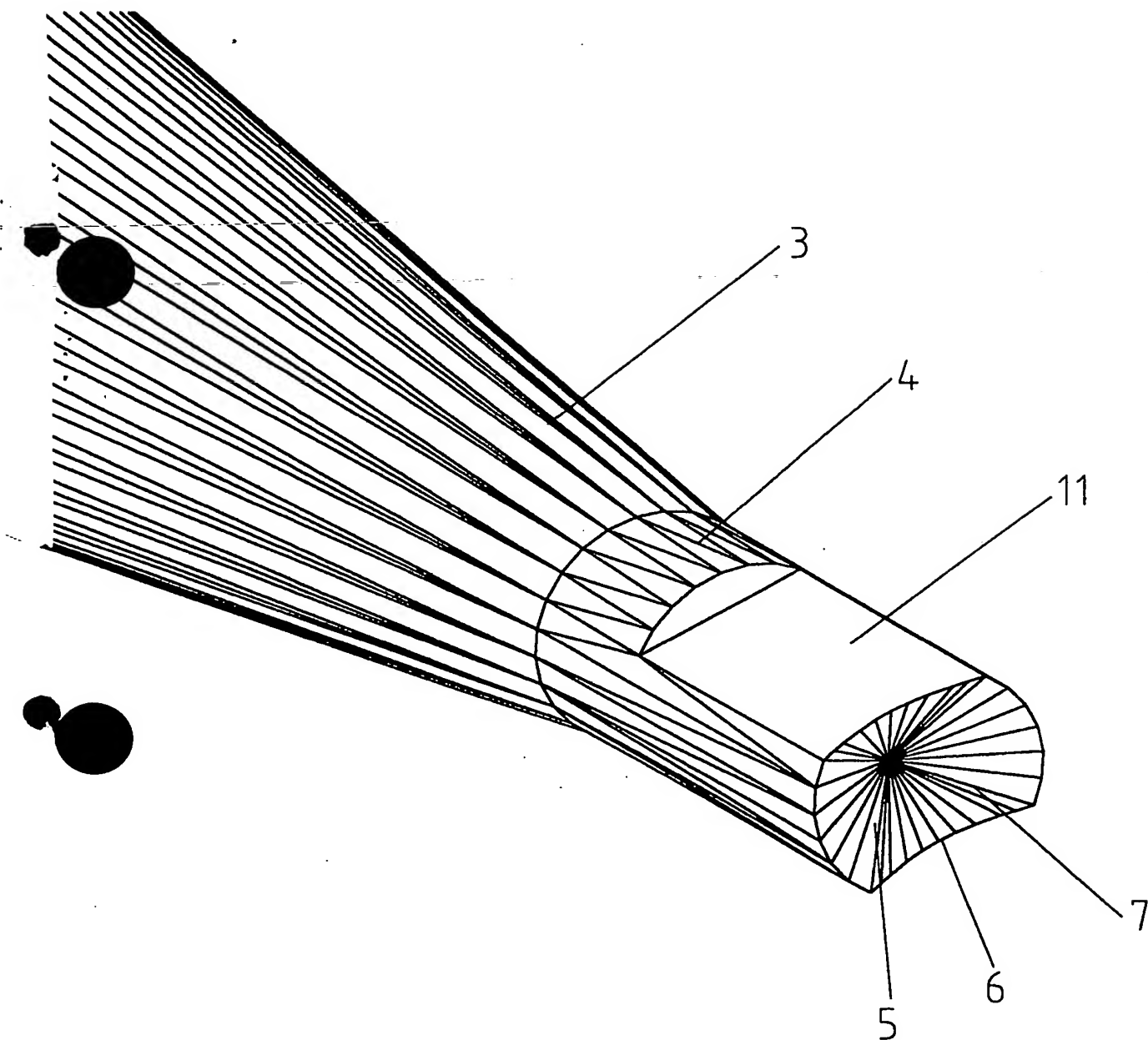


Fig.11

